

S13 1 PN=JP 1134244
? t 13/9

13/9/1
DIALOG(R) File 347:JAPIO
(c) 1998 JPO & JAPIO. All rts. reserv.

02836644
BIOSENSOR

PUB. NO.: 01-134244 [JP 1134244 A]

PUBLISHED: May 26, 1989 (19890526)

INVENTOR(s): NANKAI SHIRO

KAWAGURI MARIKO

SUETSUGU SACHIKO

KOMATSU KIYOMI

MORIGAKI KENICHI

KOBAYASHI SHIGEO

APPLICANT(s): MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD [000582] (A Japanese Company or Corporation), JP (Japan)

APPL. NO.: 62-292324 [JP 87292324]

FILED: November 19, 1987 (19871119)

INTL CLASS: [4] G01N-027/30; G01N-027/46

JAPIO CLASS: 46.2 (INSTRUMENTATION -- Testing); 14.2 (ORGANIC CHEMISTRY -- High Polymer Molecular Compounds)

JAPIO KEYWORD: R042 (CHEMISTRY -- Hydrophilic Plastics)

JOURNAL: Section: P, Section No. 923, Vol. 13, No. 382, Pg. 112, August 24, 1989 (19890824)

ABSTRACT

PURPOSE: To obtain a high-reliability response by covering an electrode system with an enzyme reaction layer consisting of high molecular weight and a mixture of enzyme and a water-absorptive high polymer.

CONSTITUTION: The electrode system consisting of a measuring electrode 2 and a counter electrode 3 and lead parts 2' and 3' are formed on an insulating substrate 1. Then an insulating layer 4 is formed covering the electrode system so as to obtain constant electrode area. A porous body 7 is held by a holding frame 5. A water-absorptive high molecular weight is formed on the electrode system, an enzyme solution is expanded on the water-absorptive high polymer layer and dried to form a mixed material of the enzyme and water-absorptive high polymer, and the enzyme reaction layer 6 is formed on the electrodes. Sample liquid is dripped on the porous body 7 of the sensor formed as mentioned above, a voltage is applied between the measuring electrode 2 as an anode and the counter electrode 3, and the current value is measured to detect substrate concentration.

BEST AVAILABLE COPY

⑫公開特許公報(A)

平1-134244

⑬Int.Cl.

G 01 N 27/30
27/46

識別記号

府内整理番号

J-7363-2G
M-7363-2G

⑭公開 平成1年(1989)5月26日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮発明の名称 バイオセンサ

⑯特願 昭62-292324

⑰出願 昭62(1987)11月19日

⑮発明者	南海 史朗	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑯発明者	河栗 真理子	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑰発明者	末次 佐知子	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑱発明者	小松 きよみ	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑲発明者	森垣 健一	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑳発明者	小林 茂雄	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉑出願人	松下電器産業株式会社	大阪府門真市大字門真1006番地	
㉒代理人	弁理士 中尾 敏男	外1名	

明細書

1、発明の名称

バイオセンサ

2、特許請求の範囲

(1) 絶縁性基板に少くとも測定極と対極からなる電極系を設け、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を前記電極系で電気化学的に検知し、前記試料液中の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、前記電極系上には、吸水性高分子層と、酵素と吸水性高分子との混合物からなる酵素反応層とを設けたことを特徴とするバイオセンサ。

(2) 吸水性高分子が、カルボキシメチルセルロース系、ビニルピロリドン系、デンプン系、ゼラチン系、アクリル酸塩系、ビニルアルコール系、無水マレイン酸系からなる群のいずれかもしくはそれらの混合物である特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3、発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、種々の微量の試料液中の基質濃度について、試料液を希釈することなく迅速かつ簡易に定量することができる、ディスポーザブルタイプのバイオセンサに関するものである。

従来の技術

従来、血液などの生体試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などを行わることなく簡易に定量しうる方式として、特開昭61-294351号公報に記載のバイオセンサを提案した。このバイオセンサは、絶縁性の基板上にスクリーン印刷等の方法でカーボンなどからなる電極系を形成し、この上を酸化還元酵素と電子受容体を担持した多孔体で覆い全体を一体化したものである。試料液を多孔体上へ滴下すると、多孔体に担持されている酸化還元酵素と電子受容体が試料液に溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し電子受容体が還元される。反応終了後、この還元された電子受容体を電気化学的に酸化し、このとき得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を求める。

発明が解決しようとする問題点

基板面の濡れが必ずしも一様とならないなどの点から、多孔体と基板面の間に気泡が残留し、応答電流に影響を与える場合があった。また、電極に吸着しやすい物質が試料液中に共存すると、応答電流の変動が見受けられた。

問題点を解決するための手段

本発明は上記問題点を解決するため、絶縁性の基板に少くとも測定極と対極とからなる電極系を設け、酵素と電子受容体と試料液を反応させ、この反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に電極系で検知し試料液中の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、電極系上に、吸水性高分子層と、酵素と吸水性高分子の混合物からなる酵素反応層とを設けたものである。

作用

上記構成により、電極上へ降下した試料液は酵素反応層に吸収され、吸水性高分子層に達してこれをゲル化するため電極上に密着しあつ電極面を十分に覆ったゲル層が安定に形成されるため、電

したものである。⑥は酵素反応層であり、以下の様にして電極上に形成した。まず、吸水性高分子としてカルボキシメチルセルロースを用い、このものの 0.5 wt\% 水溶液 $10\text{ }\mu\text{l}$ を電極系の上へ展開・乾燥し、膜厚 $1\text{ }\mu\text{m}$ 程度の吸水性高分子層を形成した。次に酵素としてグリコースオキシダーゼ 200 ユニット を前記のカルボキシメチルセルロース水溶液 $1\text{ }\mu\text{l}$ に溶解した溶液 $5\text{ }\mu\text{l}$ を上記の吸水性高分子層上へ展開・乾燥して、酵素と吸水性高分子の混合物層を形成した。この様にして得られた酵素反応層は、乾燥時 $2\text{ }\mu\text{m}$ 程度の膜厚を有するものであり、カーボン電極近傍はカルボキシメチルセルロース主体の層からなり、この上にグルコースオキシダーゼとカルボキシメチルセルロースの均一混合物主体の層から成っているものと推定される。

上記構成のグルコースセンサの多孔体上へ試料液としてグルコース標準液を滴下し、2分後に測定極をアノードとして対極との間に 500 mV の電圧を印加し、5秒後の電流値を測定した。滴下

後の漏れの不均一性や気泡の残留を解消でき、かつ吸着物質の影響も低減できるなど安定した応答特性が得られる。

実施例

以下、本発明の一実施例について説明する。

バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。

第1図はグルコースセンサの一実施例についての断面図であり、第2図はその構成部分を分解斜視図で示したものである。

ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性基板1にスクリーン印刷により導電性カーボンペーストを印刷し、加熱乾燥して測定極2と対極3からなる電極系と、それぞれのリード部 $2'$, $3'$ を形成する。次に電極系を部分的に覆い、一定の電極面積が得られるように絶縁性ペーストを前記同様に印刷・乾燥して絶縁層4を形成する。多孔体7は保持枠5で保持されており、フェリシアン化カリウム 300 mg をリン酸緩衝液($\text{pH }5.6$) 1 ml に溶解した液をセルロース紙に含浸・乾燥して作製

された試料液は多孔体に担持されたフェリシアン化カリウムを溶解し、電極上へ降下する。ここで、試料液は、吸水性高分子に吸収され、電極上に密着し、電極系を覆ったフェリシアン化カリウム、グルコースオキシダーゼを含む吸水性高分子による水溶性ゲルからなる酵素反応層が形成される。このため、気泡の残留なども起らず安定した応答電流が得られる。

上記の電圧印加により、酵素反応で生成したフェロシアン化カリウムが測定極で酸化され、このとき得られる電流値は試料液中のグルコース濃度に応答している。

第3図に応答電流とグルコース濃度の関係を示す。図中Aは上記に述べた酵素反応層を設けた場合である。一方Bは、予め吸水性高分子層を形成することなくグルコースオキシダーゼとカルボキシメチルセルロースの混合物層のみで酵素反応層を形成した以外はAと同様に作成した場合である。本発明のAは良好な直線性を有し、かつBに比較して感度も高い。この感度の向上は、予め吸水性

高分子層を形成することにより、酵素アグリゲート電極への吸着が低減されたものによるものと推定される。

一方、図には示していないが、電極系の上へ上記の様に酵素反応層、および吸水性高分子層も形成せずに、酵素を多孔体にフェリシアン化カリウムとともに担持した場合には、電極上に気泡が残留する場合が見うけられ、応答電流が不安定であった。

本発明の利点としては、上記以外に、酵素を効率的に利用できる点がある。これは、吸水性高分子と酵素の混合物層を形成しているので、試料液が吸収された酵素反応層中で、むだなく、円滑に酵素反応を進行させることができ、用いる酵素量も微量で良い。

水を吸収してゲル化する吸水性高分子として、天然高分子類では、デンプン系、セルロース系、アルギン酸系、ガム類、タンパク質系などがあり、合成高分子類では、ビニル系、アクリル酸系、無水マレイン酸系、水性ウレタン系、ポリ電解質系

メチルセルロース系、ゼラチン系、アクリル酸塩系、ビニルアルコール系、ビニルピロリドン系、無水マレイン酸系のものが好ましい。これらは、単独または混合物、共重合体であっても良い。これらの高分子は容易に水溶液とすることができますので、適当な濃度の水溶液を塗布、乾燥することにより、必要な厚さの薄膜を電極上に直接形成することができる。

上記実施例では、測定極と対極のみの二極電極系について述べたが、参照極を加えた三電極方式にすれば、より正確な測定が可能である。

また、電子受容体としては、上記実施例に用いたフェリシアン化カリウム以外にも、ローベンゾキノン、フェナジンメトサルフェートなども使用できる。さらに、上記実施例のセンサは酵素として、上記実施例のグルコースオキシダーゼ以外のアルコールオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ等を用いれば、アルコールセンサ、コレステロールセンサなどにも用いることができる。

発明の効果

以上のように、本発明のグルコースセンサは、電極系上を、吸水性高分子層と、酵素と吸水性高分子の混合物からなる酵素反応層で覆うことにより、信頼性の高い応答を得ることができる。

4. 図面の簡単な説明

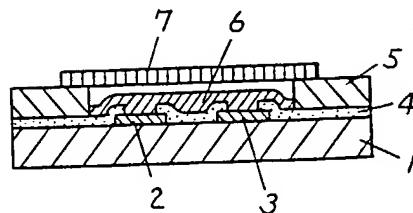
第1図は本発明の一実施例であるグルコースセンサの断面図、第2図はその分解斜視図、第3図はグルコースセンサの応答特性図である。

1……基板、2……測定極、3……対極、6……酵素反応層。

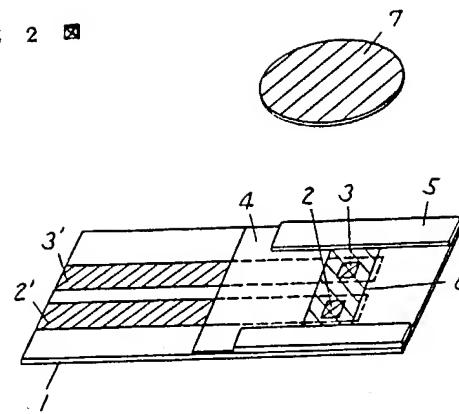
代理人の氏名 弁理士 中尾敏男ほか1名

- 1 ——絶縁性基板
- 2 ——測定極
- 3 ——対極
- 4 ——絶縁層
- 5 ——保持枠
- 6 ——酵素反応層
- 7 ——多孔体

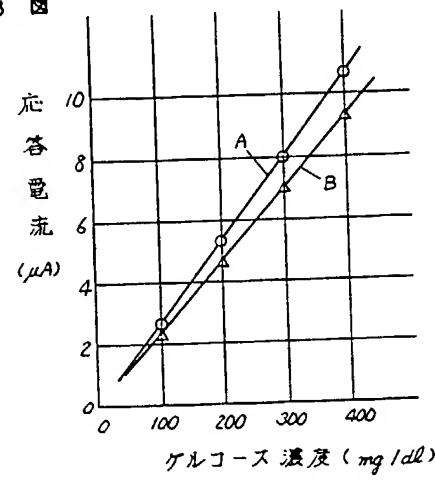
第1図



第 2 図



第 3 図



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.